

Untersuchungen über das Auftreten
von Schwesterchromatidaustauschen bei
zytostatischer Intervalltherapie mit
Methyl-CCNU, 5-Fluorouracil, Vincristin

von
Birgit Windolph
aus
Forchheim

1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546212_0086

Aus dem Institut für Humangenetik und Anthropologie
der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Professor Dr. med. R. A. Pfeiffer

Untersuchungen über das Auftreten von Schwesterchromatidaustauschen bei zytostatischer Intervalltherapie mit Methyl-CCNU, 5-Fluorouracil, Vincristin

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Birgit Windolph

aus

Forchheim

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten

Referent: Prof. Dr. E. Gebhart

Korreferent: Prof. Dr. R.A. Pfeiffer

Tag der mündlichen Prüfung: 13.11.1980

Meinen Eltern
gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	5
2. Patientengut und Methode	7
2.1. Patientengut	7
2.2. Methode	8
2.3. Auswertung	9
3. Ergebnisse	10
3.1. Kontrolluntersuchungen	10
3.2. Gleiche Patienten vor Therapiebeginn und nach verschiedenen Therapieabschnitten	10
3.3. Interindividuelle Variabilität im gleichen Therapiestadium	10
3.4. Patienten vor und nach dem jeweiligen Therapieschub	12
3.5. Therapieabschnitte mit MeCCNU und ohne	13
3.6. Werte zu bestimmten Therapiephasen	13
4. Diskussion	14
4.1. Kontrollwerte	14
4.2. SCE-Raten nach Therapiebeginn	15
4.3. Die Wirkung des Zytostatikums MeCCNU	16
4.4. Die Wirkung von 5-Fluorouracil und Vincristin	17
4.4.1. Vincristin	17
4.4.2. 5-Fluorouracil	18
4.5. SCEs und Chromosomenaberrationen	19
4.6. Die interindividuelle und interzelluläre Variabilität	20
5. Zusammenfassung	21

Abbildungen	23
Tabellen	30
Literaturverzeichnis	39
Anhang	

1. Einleitung

Die Analyse von Schwesterchromatidaustauschen (sister chromatid exchanges = SCEs) stellt eine entscheidende Erweiterung des Spektrums zytogenetischer Techniken zur Erfassung mutagener/karzinogener Einflüsse auf Somazellen dar und ist sowohl für In vitro- als auch für In vivo-Untersuchungen einsetzbar (PERRY, EVANS 1975; STETKA, WOLFF 1976 a,b; VOGEL und BAUKNECHT 1976; RAPOSA 1978; BAUKNECHT et al. 1977). Die Methode nützt das veränderte Färbeverhalten von Chromatiden mit doppelt Bromdesoxyuridin-BUDR)-substituierter DNS gegenüber Chromatiden mit einfach substituierter DNS aus. Dazu ist die Einwirkung des Thymidinanalogs BUDR während zweier DNS-Replikationsphasen der zu untersuchenden Zellen erforderlich. Die bereits von TAYLOR (1957) mit Hilfe von komplizierteren autoradiographischen Techniken dargestellten Schwesterchromatidaustausche werden heute mit der BUDR/Giemsa-Färbetechnik auf relativ einfache Art sichtbar gemacht (LATT 1973, 1974; KORENBERG und FREEDLENDER 1974; WOLFF und PERRY 1974; PERRY, WOLFF 1974).

Für eine große Zahl bekannter Mutagene (erbgutschädigender Agentien) konnte eine klare Korrelation zwischen chromosomenbrechender (clastogener) Aktivität und SCE-Induktion gezeigt werden (KATO 1974 a; LATT 1974; BEEK, OBE 1975; PERRY und EVANS 1975; HAYASHI, SCHMID 1975; SOLOMON, BOBROW 1975; KATO SHIMADA 1975; ALLEN, LATT 1976; VOGEL, BAUKNECHT 1976; BURGDORF et al. 1977; BAUKNECHT et al. 1977; ABE, SASAKI 1977; POPESCU et al. 1977; WOLFF et al. 1977; LAMBERT et al. 1978; NEVSTAD 1978). Dabei wurde festgestellt, daß die Häufigkeit der Schwesterchromatidaustausche etwa um das 100fache höher liegen kann, als die verschiedenen Aberrationstypen wie Gaps, Brüche, Translokationen etc. (SOLOMON, BOBROW 1975; BEEK, OBE 1975). Damit erwiesen sich die Schwesterstrangaustausche als sensiblerer Indikator für clasto-

gene Aktivität, als die durch die herkömmlichen Testmethoden erfaßten Aberrationstypen. Dies bedeutet gleichzeitig, daß nicht nur die Häufigkeit der SCEs unter der Einwirkung verschiedener Zytostatika drastisch erhöht ist, sondern auch, daß erhöhte SCE-Raten bereits nach der Einwirkung von Agenskonzentrationen beobachtet werden können, die für die Auslösung von Bruchaberrationen zu niedrig sind.

Die sich daraus ableitende Annahme, daß die SCE-Analyse damit eine hochsensible Ersatzmethode für die aufwendigere klassische Aberrationswertung darstellen könnte, ist jedoch nicht mehr aufrechtzuerhalten, seit über verschiedene Clastogene berichtet wurde, die nicht in der Lage sind, die SCE-Rate zu erhöhen (STETKA, WOLFF 1976 a,b; CHAGANTI et al. 1974; GALLOWAY, EVANS 1975; BURGDORF 1977; GALLOWAY 1977; LAMBERT et al. 1978; NEVSTAD 1978; RAPOSA 1978; CARRANO 1979; HATCHER 1979). Dennoch hat sich die SCE-Analyse als ergänzende Testmethode in zahlreichen In vitro- wie auch In vivo-Studien bestens bewährt.

Nachdem erste Untersuchungen an sehr begrenzten Kollektiven zytostatisch belasteter Patienten die Möglichkeit des Einsatzes der SCE-Technik auch für zytogenetische Studien bei chemisch belasteten Personen angedeutet hatten, sollte in der vorliegenden Untersuchung auf breiterer Basis geprüft werden, inwieweit eine zytostatische Intervalltherapie bei Patienten nach operativer Entfernung kolorektaler Karzinome zu einer Erhöhung der SCE-Frequenz führt. Dabei kam es der Studie zugute, daß die untersuchten Patienten nach einem einheitlichen Therapieschema behandelt wurden (siehe unten).

Folgende Fragestellungen wurden der Untersuchung zugrundegelegt:

1. Finden sich im Verlauf der Therapie SCE-Raten, die gegenüber den Werten vor Beginn der Therapie erhöht sind?

2. Läßt sich eine Zunahme der SCE-Rate mit zunehmender Zahl von Therapieschritten beobachten?
3. Welchen Einfluß hat das nur zu jedem zweiten Therapieabschnitt verabreichte Methyl-CCNU (CCNU = 1-(-chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosourea) auf die SCE-Rate?
4. Besteht eine starke interindividuelle und interzelluläre Variabilität der SCE-Rate?

Damit sollte die vorliegende Untersuchung letztlich einen Beitrag zur Klärung der Bedeutung und der Anwendbarkeit von SCE-Analysen im Rahmen vergleichbarer Mutagenitätsprüfungen beim chemisch belasteten Menschen liefern.

2. Patientengut und Methode

2.1. Patientengut

In Zusammenarbeit mit der Chirurgischen Universitätsklinik Erlangen wurde an einem Patientenkollektiv von 28 Patienten die zytogenetische Wirksamkeit einer postoperativen zytostatischen Therapie nach einem einheitlichen Behandlungsschema geprüft. Es handelt sich um 13 Patienten männlichen und 15 Patienten weiblichen Geschlechts mit einem Durchschnittsalter von rund 52 Jahren (Tab. 1).

Nach der operativen Entfernung eines Rektum- oder Colonkarzinoms wurde bei den Patienten, ohne vorherige oder gleichzeitige Strahlenexposition, eine postoperative zytostatische Behandlung nach folgender Standardmethode durchgeführt:

Verwendet wurde die Kombination Methyl-CCNU, ein Nitrosoharnstoffderivat, Fluorouracil (5-FU) und Vincristin (VCR). Die Therapie wurde eingeleitet mit Methyl-CCNU 150 mg/m^2 Körperoberfläche oral; 5-FU i.v. 300 mg/m^2 Körperoberfläche und VCR i.v. 1 mg/m^2 Körperoberfläche am ersten Behandlungstag ungefähr 8-14

Tage nach der Operation, je nach Abheilung der Operationswunde. An den folgenden 4 Tagen wurde nur 5-FU in der angegebenen Konzentration verabreicht. Nach dem 5. Behandlungstag erfolgte eine 4wöchige Therapiepause. Der zweite Therapieabschnitt wurde nur mit VCR + FU (Tag 1) und FU (Tage 2-5) durchgeführt; nach der folgenden 4wöchigen Therapiepause folgte der 3. Therapieabschnitt, der wieder mit dem 1. Abschnitt identisch war, usw. (Abb. 1). Die erste Chromosomenuntersuchung fand vor dem ersten Therapieschub statt = vor 1. Weitere Chromosomenuntersuchungen wurden jeweils nach und vor jedem Therapieabschnitt durchgeführt. Die Weiterbehandlung erfolgte lediglich bei klinischer Rezidivfreiheit.

2.2. Methode

Aus dem peripheren Blut eines jeden Patienten wurden vor Beginn und am Ende eines jeden Therapieabschnittes Lymphozytenkulturen angelegt. Das Ansetzen der Blutkulturen erfolgte in einem, durch Zugabe von 0,3 ml Penicillin G, (600 I.E. Penicillin G/ml), gebrauchsfertig gemachten Ham's F 10 Medium (Seromed) mit 15 Tropfen Patientenblut, 0,5 ml Kälberserum (Ass. Biomedic Systems Inc.) und 0,2 ml BUDR (= 5-Bromdesoxyuridin, in einer Endkonzentration von $2,2 \times 10^{-5}$ mol/l). Als Teilungsstimulans wurden 2 - 3 Tropfen einer definierten Phytohämagglutininlösung (PHA purified, Wellcome) zugesetzt. Die Kulturdauer betrug 72 Stunden im Brutschrank bei 37° Celsius. 2 Stunden vor Abbruch der Kultur wurde zur Blockierung der Mitosen in der Metaphase Colcemid (8×10^{-5} g/ml) zugegeben. Die Fixierung erfolgte mit einem Methanol / Eisessig-Gemisch (3 : 1).

Zur Darstellung der Schwesterchromatidaustausche wurden die luftgetrockneten Präparate mit der Giemsa Technik gefärbt. Diese Methode, Schwesterchromatidaustausche erkennbar zu machen, wurde

im wesentlichen von PERRY und WOLFF (1974) übernommen.

Um die Auswertbarkeit der Metaphasen zu erhöhen, wurden die Präparate 10 Minuten mit Hoechst 33258 - Fluorochrom (Bisbenzimid) behandelt. Anschließend wurden die Präparate mit nach Sörensen gepuffertem H_2O von pH 6,8 abgespült, 30 Minuten mit UV Licht (254 nm) in gepuffertem H_2O bestrahlt, mit 10 x SSC (Saline sodium citrate = 87,7 g NaCl + 44,1 g Na-Citrat in 1000 ml aqua dest.) für 20 Minuten bei 60°C inkubiert, abgekühlt und 5 Minuten mit 7 %iger Giemsa-Lösung gefärbt. Die Einbettung zu Dauerpräparaten erfolgte mit Eukitt.

2.3. Auswertung

Die Auswertung wurde unter dem Lichtmikroskop vorgenommen. Pro Ansatz wurde die Auswertung von 30 Metaphasen mit jeweils 46 Chromosomen und eindeutiger Chromatiddifferenzierung angestrebt. Nicht ausgewertet wurden Brüche und Gaps, da vor allen Dingen Gaps schwer zu identifizieren waren. Ebenso blieben Metaphasen unausgewertet, bei denen nur noch ein Teil der Chromosomen Chromatiddifferenzierung aufwies (3. Metaphase). Die Zählung der Schwesterchromatidaustausche erfolgte nach dem Schema in Anlehnung an die Methode von KORENBERG und FREEDLENDER (1974).

Austausche, die exakt in der Zentromerregion lokalisiert waren, wurden nicht in die Auswertung mit einbezogen, da in diesen Fällen auch eine bloße Verdrehung der Chromatiden einen echten Austausch vortäuschen konnte. Insgesamt wurden 188 Ansätze untersucht. In die Auswertung gingen 47 Ansätze ein, mit 15 - 30 Metaphasen pro Ansatz. Die Abbildungen 2 - 4 zeigen Schwesterchromatidaustausche, wie sie sich nach der oben beschriebenen Methode darstellen.

3. Ergebnisse

3.1. Kontrolluntersuchungen

Tabelle 2 zeigt anhand von 9 Patienten die SCE-Raten vor Beginn der Intervalltherapie. 1 männlicher und 8 weibliche Probanden mit einem Durchschnittsalter von 51 Jahren zeigten eine durchschnittliche SCE-Rate pro Metaphase von 5,15 bei 254 ausgewerteten Zellen. Die Extremwerte an Schwesterchromatidaustauschen lagen zwischen 0 und 18 pro Metaphase.

Insgesamt kann festgestellt werden, daß die SCE-Rate vor Beginn der zytostatischen Intervalltherapie nicht wesentlich erhöht ist, sondern vielmehr im Bereich der aus anderen Untersuchungen ermittelten Norm liegt (BEEK, OBE 1975; DAOUD et al. 1976; CHAGANTI et al. 1974; BURGDORF et al. 1977; CROSSEN et al. 1977; MORGAN u. CROSSEN 1977 a,b).

3.2. Gleiche Patienten vor Therapiebeginn und nach verschiedenen Therapieabschnitten

Abbildung 5 verdeutlicht an 4 Probanden die Unterschiede der SCE-Raten vor Therapiebeginn und nach verschiedenen Therapieabschnitten. Die Erhöhung der Austauschraten nach Behandlungsbeginn erfährt mit fortschreitender Therapiedauer eine zunehmende Steigerung, wobei sie auch nach Therapieintervallen in keinem Fall mehr das Niveau der Null-Kontrolle (= vor Therapiebeginn) erreicht. Eine deutliche interindividuelle Variabilität zeigt sich jedoch im unterschiedlichen Anstieg der Austauschraten.

3.3. Interindividuelle Variabilität im gleichen Therapiestadium

Die interindividuelle Variabilität im gleichen Therapiestadium zeigt bei 4 Probanden vor dem 2. Therapieabschnitt einen Unterschied von minimal 11 SCE/M zu maximal 17,7 SCE/M. Die Summe

der Schwesterchromatidaustausche ging von 330 bis 565, wobei die Zahl der ausgewerteten Zellen 30 betrug (mit einer Ausnahme von 32 ausgewerteten Zellen pro Ansatz). Die Extremwerte beliefen sich zwischen 3 und maximal 32 (Abb. 6). Von 6 Probanden vor dem 3. Therapieabschnitt mit 155 ausgewerteten Zellen zeigt sich bei 2 Probanden eine größere Variabilität. Sie belief sich auf 9,7 bzw. 25,5 SCE/M, wobei der Durchschnitt bei 15,6 lag. Bei den übrigen 4 Probanden fanden sich dagegen zu diesem Zeitpunkt SCE-Raten, die im Bereich des Durchschnittes von 15 lagen. Im Vergleich zu den Probanden aus dem Therapiestadium "vor 2" zeigte sich kein Unterschied. "Vor 2" ergab 15,5 SCE/M und "vor 3" waren es 15,6 SCE/M; ebenso wiesen die Extremwerte keinen Unterschied auf. Sie lagen bei "vor 2" zwischen 3 und 32 und bei "vor 3" zwischen 2 und 36 (Abb. 6). Ein signifikanter Unterschied ergab sich erst bei 3 Patienten aus dem Therapiestadium "vor 4". Hier zeigte sich bei den Austauschraten pro Metaphase ein Intervall von 15 - 27 SCE/M. Ebenso schwankten die Extremwerte zwischen 0 - 45, 4 - 28 und 8 - 24 (Tab. 3). Im Vergleich zu den vorhergehenden beiden Therapiestadien "vor 2" und "vor 3" ist ein erkennbar höherer Durchschnittswert von 20,8 SCE/M festzustellen.

Eine zunehmende Erhöhung der SCE-Raten zeigte sich bei den Probanden des Therapiestadiums "vor 6". Hier lag der durchschnittliche Schwesterchromatidaustauschwert bei 28 SCE/M. Die beobachteten Extremwerte betrugen in diesem Fall 1 und 62 SCE/M. Wiederum sind interindividuelle Variabilitäten feststellbar mit einer Standardabweichung $s = 9,7$ vom ermittelten Durchschnittswert (Tab. 4).

Die interindividuelle Variabilität im Therapiestadium "nach 2" erstreckte sich, wie in Tabelle 8 zu sehen ist, bei 3 Probanden von 10,6 SCE/M bis 15,5 SCE/M. Deutlich zu sehen ist der Anstieg

der Chromatidaustausche von 13,3 SCE/M im Stadium "nach 2" auf 20,2 SCE/M nach dem 6. Therapieschub. Unter den 3 Patienten aus dem 6. Therapieabschnitt ist kein wesentlicher Unterschied der SCE-Raten zu verzeichnen. Die Extremwerte lagen zwischen 1 und 41 und mit ihnen erhöhte sich auch die Standardabweichung von 4,2 im Therapiestadium "nach 2" auf 10 im Abschnitt "nach 6" (Abb. 7).

3.4. Patienten vor und nach dem jeweiligen Therapieschub

Tabelle 5 zeigt zusammengefaßt die Patienten vor dem jeweiligen Therapieschub. Eine Zunahme der SCE-Raten ist schon vor Beginn des 2. Therapieabschnittes erkennbar. Weiterhin ist zu beobachten, daß mit fortschreitender Behandlung die Schwesterchromatidaustauschrate nicht kontinuierlich zunimmt, sondern teilweise auf niedrigere Werte absinkt. Allerdings konnte in keinem einzigen Fall beobachtet werden, daß die Schwesterchromatidaustauschrate auf oder unter den Kontrollwert vor Therapiebeginn zurückgegangen wären. Insgesamt zeigten sich bei 18 Probanden mit 646 ausgewerteten Zellen eine SCE-Rate von 21,8 sowie ein Streuwertbereich von 0 bis maximal 64 bei Erfassung der Therapiestadien von "vor 2" bis "vor 15".

Faßt man die unmittelbar nach dem jeweiligen Therapiestoß ermittelten Ergebnisse zusammen, so lag der durchschnittliche SCE-Wert bei 18. Die Probandenzahl belief sich auf 11 und die ausgewerteten Zellen ergaben eine Gesamtzahl von 314. Wie die Tabelle 6 zeigt, reichen die Extremwerte von 1 bis maximal 42. Interindividuelle Unterschiede bei gleichem Therapiezeitpunkt weisen eine Schwankungsbreite von $\pm 2,1$ bei den Probanden nach dem 2. Therapiestoß und von ± 5 nach dem 6. Therapiestoß auf. Auch hier, wie bei den Ergebnissen aus den Untersuchungen über die

vor den jeweiligen Therapiestößen ausgewerteten Zellen, fand sich kein SCE-Wert, der einem SCE-Wert vor Therapiebeginn entsprochen hätte. Höhere Therapiestadien gingen bei den Schwesterchromatidaustauschratenuntersuchungen nach Therapiestoß nicht ein, lediglich ein Wert von "nach 8" und ein Wert von "nach 9".

3.5. Therapieabschnitte mit MeCCNU und ohne

Eine Aufteilung der Ergebnisse nach Therapieabschnitten ist in Tabelle 7 und 8 zu sehen. Eine Einteilung konnte dadurch erreicht werden, daß die Therapiestadien mit MeCCNU den Abschnitten gegenübergestellt wurden, in denen den Patienten nur 5-FU verabreicht wurde. Eine differenzierte Einteilung fand durch eine Aufgliederung in "vor" und "nach" Therapieschüben statt. Nach den Therapieabschnitten mit MeCCNU fanden sich keine höheren SCE/M - Werte als nach Abschnitten ohne MeCCNU. Ein Vergleich der Werte vor und nach Therapieschub ohne MeCCNU zeigte, daß der SCE/M - Wert nach dem Therapieschub höher lag als davor. Die Extremwerte lagen in den Therapieabschnitten mit MeCCNU höher, nämlich zwischen 0 bis 62, als in den Therapieabschnitten mit 5-FU (1 bis 48). In die ersten 3 Therapieabschnitte mit MeCCNU wurden 9 Probanden einbezogen und 263 Zellen ausgewertet. Diesen wurden von den ersten 3 Therapieabschnitten 10 Probanden mit 5-FU mit 245 ausgewerteten Zellen gegenübergestellt.

3.6. Werte zu bestimmten Therapiephasen

Die Einteilung in bestimmte Therapiephasen zeigt Tabelle 9. Die erste Therapiephase geht von "nach 1" bis "nach 2", die zweite von "vor 3" bis "nach 4", die dritte von "vor 5" bis "nach 6" und die vierte Therapiephase umfaßt "vor 7", "vor 8", "nach 9", "vor 10" und "vor 15". Anhand dieser Werte ist ein Anstieg der

SCE/M von 14,7 über 20,2 und 23,1 zu 28,7 zu verzeichnen. Ebenso erhöhen sich die Extremwerte bei einem maximalen Wert von 36 in der ersten Phase der Therapie über 45 in der zweiten, 48 in der dritten, auf 70 in der vierten Therapiephase. Dabei läßt sich feststellen, daß Minimalwerte der SCE-Raten unter 10 in den verschiedenen Therapiephasen 3mal beobachtet wurden. Die Abbildung 8 veranschaulicht nochmals den kontinuierlichen Anstieg der Schwesterchromatidaustausche in den 4 Therapieabschnitten.

4. Diskussion

4.1. Kontrollwerte

Als Kontrollwerte sind in der vorliegenden Untersuchung die SCE-Raten vor Therapiebeginn anzusehen. Ihr Durchschnittswert von 5,15 liegt ebenso im Bereich der in der Literatur angegebenen Werte bei vergleichbarer BUDR-Konzentration (BEEK und OBE 1975 und 1979, DAOUD et al. 1976, CHAGANTI et al. 1974, CROSSSEN et al. 1977, BURGDORF et al. 1977, MORGAN u. CROSSSEN 1977 a,b) wie die ermittelten Standardabweichungen und Extremwerte.

BUDR erhöht zwar in höheren Konzentrationen dosisabhängig die SCE-Raten (KATO 1974 a, DUTRILLAUX et al. 1974, LATT 1974, WOLFF, PERRY 1974, BLOOM et al. 1975, LAMBERT et al. 1976), die Anzahl von SCEs bei niedriger BUDR-Konzentration ist aber in vielen Fällen als ein empfindlicher Indikator für DNS-Schädigung durch mutagene Agentien erkannt worden und wird deshalb für die Mutagenitätsprüfung angewandt. Dabei ist die Erzeugung von Schwesterchromatidaustauschen durch Mutagene In vitro (PERRY, EVANS 1975, SOLOMON et BOBROW 1975, TAKEHISA, WOLFF 1977), aber auch In vivo (VOGEL, BAUKNECHT 1976) möglich. SCEs entstehen entsprechend

den heute gültigen Hypothesen als eine Konsequenz von Läsionen in den DNS-Molekülen, gefolgt von einem rekombinationsartigen Austausch von DNS-Duplicates innerhalb der Chromosomen. Autoren wie CHAGANTI et al. (1974) und KATO 1974 b,c, 1977) sahen eine nahe Beziehung zwischen DNS-Synthese, DNS-Repair-Prozessen und SCE. Deshalb bedarf es einer weiteren experimentellen Klärung der Entstehungsmechanismen von Schwesterchromatidaustauschen, ehe die genetische Bedeutung dieses Phänomens abzuschätzen ist.

4.2. SCE-Raten nach Therapiebeginn

Eine Erhöhung der SCE-Raten wurde nach der Einwirkung von Zytostatika festgestellt. In der vorliegenden Studie ist neben der Erhöhung der Austauschraten nach Beginn der Therapie (verbunden mit einer zunehmenden interzellulären und interindividuellen Variabilität) besonders bemerkenswert, daß die beobachteten Schwesterchromatidaustauschwerte auch 4 Wochen nach dem letzten Therapieschub in keinem Fall auf die Kontrollraten vor Beginn der Therapie zurückgingen. LAMBERT fand eine 2 bis 4fache Erhöhung der SCE-Häufigkeit bei Patienten nach Behandlung mit dem Zytostatikum CCNU und einen Rückgang der SCE-Raten auf ihre Normalwerte 16 bis 18 Wochen nach der letzten CCNU-Verabreichung. Dies kann nach LAMBERT mit dem relativ inkompletten Repair-Mechanismus des durch CCNU induzierten DNS-Schadens erklärt werden (LAMBERT 1979).

In der vorliegenden Untersuchung gingen die Austauschraten 4 Wochen nach dem letzten Therapieschub nicht nur kaum zurück, sie erhöhten sich vielmehr mit zunehmender Zahl an Therapieabschnitten, vor allem in fortgeschrittenen Therapieabschnitten, beträchtlich. Eine lineare Dosis - Wirkung - Beziehung fehlt damit und ist wohl u.a. auf die individuelle Disposition, selek-

tive Faktoren und Repair-Mechanismen, sowie möglicherweise auf eine gewisse Zell-Letalität zurückzuführen.

4.3. Die Wirkung des Zytostatikums MeCCNU

Ein Vergleich der in dieser Untersuchung ermittelten Austauschraten mit und ohne MeCCNU zeigt keine Erhöhung der SCE-Raten. Andererseits ist nach den Therapieabschnitten, in denen nur VCR und 5-FU verabreicht wurde, keine Reduzierung der SCE-Raten, sondern z.T. sogar eine Erhöhung feststellbar. Somit scheinen die weit über die Kontrollwerte ansteigenden Austauschraten nach mehreren Therapieschüben die Folge einer Langzeit-Reaktion auf clastogene Einflüsse zu sein, wobei die Summation an MeCCNU-Gaben eine nicht unerhebliche Rolle spielen dürfte. Die erhöhten SCE-Raten wurden von einer, wenn auch nicht so evidenten Erhöhung an Aberrationsraten begleitet. Letztere erwies sich jedoch in den Abschnitten mit MeCCNU gegenüber den Therapiephasen, in denen nur mit 5-FU- und VCR-Gaben behandelt wurde, als erheblich deutlicher (mündl. Mitteilung, Gebhart). Chromosomale Strukturdefekte sind demnach eher als kurzfristige Folgen mutagener Einflüsse zu werten als SCEs, die ihrerseits offensichtlich eher zum Nachweis langfristiger Effekte clastogener Einwirkung geeignet erscheinen. Bei den Untersuchungen von MUSILOVA et al. (1979) blieb die SCE-Rate sogar noch 4 Monate nach Therapieabschluß in gleicher Höhe bestehen. Bei der Behandlung mit Busulphan erreichte dabei die Zahl der SCEs ihren Gipfel 5 Wochen nach Beendigung der Behandlung. Auch RAPOSA et al. (1978) stellten eine Erhöhung der Austauschraten nach zytostatischer Therapie fest. Bei ihnen ging jedoch nach Behandlung mit Cyclophosphamid (allein oder in Kombination mit anderen Zytostatika) - im Gegensatz zu den eigenen und den oben zitierten Beobachtungen - die SCE-Rate nach Absetzen der Chemotherapie nach 10 Tagen auf ihren Initialstand zurück.

4.4. Die Wirkung von 5-Fluorouracil und Vincristin

In dieser Untersuchung konnte keine auffällige Zunahme an SCE-Raten nach 5-FU und VCR-Gabe festgestellt werden. Berücksichtigt werden muß dabei jedoch, daß die hier aufgeführten Zytostatika nie allein, sondern immer in Kombination eingenommen wurden.

4.4.1. Vincristin

Aus der Literatur sind unterschiedliche Angaben über die Wirkung von VCR auf eine Induktion von Schwesterchromatidaustauschen zu entnehmen. So beschreiben STOLL et al. (1976) bei In-vitro-Untersuchungen einen gewissen Dosiseffekt: Höhere Konzentrationen (höher als in der Therapie verwendbar) lassen die Lymphozyten von vornherein nicht die 2. oder gar 3. Mitose erreichen. Geringe Konzentrationen bedingen eine Abnahme der SCE-Raten gegenüber Nullkontrollen. Bei KAKATI (1978) erhöhte Vincristin in Kombination mit Daunorubicin die SCE-Rate auf 24,4, bei Patienten mit akuter myeloblastischer Leukämie, die vor Therapiebeginn eine SCE-Rate von $3,8 \pm 6,4$ hatten. Bei RAPOSA (1978) erhöhte Vincristin die Austauschraten auf 25,5 SCE/M, wohingegen LAMBERT et al. (1978) zwar eine SCE-Induktion feststellen konnten, die aber gegenüber dem von ihnen angegebenen Kontrollbereich nicht signifikant war. LAMBERT führte diese Untersuchung In vitro durch, bei Verwendung menschlicher Lymphozyten und CHO-Zellen. RAPOSA stellte bei In vivo-Tests fest, daß nicht alle Zytostatika die Austauschraten erhöhen. Eine Erklärung sieht er darin, daß die Lymphozyten sich in Gegenwart von Zytostatika nicht teilen und daher eine DNS-Schädigung in der S-Phase nicht möglich ist, und als Alternative, daß die ver-

schiedenen Zelltypen eine unterschiedliche Sensitivität zu chemischen Mutagenen zeigen. HO (1973), BEEK, OBE (1974, 1977) und SCHINZEL, SCHMID (1976) kommen in ihren Untersuchungen zum selben Ergebnis.

4.4.2. 5-Fluorouracil

SONO und SAKAGUCHI (1978) legten in ihrer In vitro-Untersuchung dar, daß SCEs schon durch niedrige Fluorouracil-Konzentrationen induziert werden und stellten fest, daß in ihren Tests SCE-Gipfel nicht notwendigerweise mit einer entsprechenden Häufung von Chromosomen-Brüchen und Gaps assoziiert sind. Sie schlugen eine Beziehung zwischen SCE-Entstehung, Chromosomen-Aberrations-Entstehung und DNS-Repair vor. LAMBERT et al. (1978) und MUSILOVA et al. (1979) konnten keine Erhöhung der Austauschraten nach 5-FU-Applikation feststellen. MUSILOVA et al., die auch Brüche auswerteten, konnten nicht einmal eine erhöhte Bruchrate erkennen. Hingegen induzierte bei SOKOVA (1978) das Zytostatikum FU Chromosomenaberrationen, aber keine SCEs.

Die sich widersprechenden Literaturangaben sind wohl unter anderem auf die geringe Patientenzahl bzw. auf die zu niedrige Anzahl ausgewerteter Zellen zurückzuführen. So erhöhte zum Beispiel nach RAPOSA (1978) Vincristin die Austauschrate auf 25,5 SCE/M, jedoch erfolgte die Auswertung lediglich anhand von 8 Patienten und 25 Zellen.

Das hier aufgeführte Patientenkollektiv läßt auf jeden Fall den Schluß zu, daß MeCCNU in Verbindung mit den Chemotherapeutika 5-FU und VCR eine Erhöhung der SCE-Raten bewirkt, die sofort mit Beginn der Behandlung einsetzt, nie mehr auf die Kontrollrate zurückgeht und vielmehr mit fortschreitenden

Therapieabschnitten eine stetige Zunahme erfährt. Inwiefern nun der Kombinationseffekt eine Rolle spielt, ist aus dieser Untersuchung schwer zu beurteilen. Nicht von der Hand zu weisen wäre ein Summationseffekt der einzelnen Dosen und der verwendeten Therapeutika, sowie der Behandlungsdauer. Ohne Zweifel entstehen DNS-Läsionen, die sich dann als Schwesterchromatid-austausche manifestieren, und zwar erheblich häufiger als in den klassischen Aberrationen. Inwieweit nun die Induktion solcher DNS-Schäden die Applikation von Chemotherapeutika rechtfertigt oder nicht, bedarf einer weiteren Diskussion auf einer anderen Ebene, die über diesen Rahmen hinausginge.

4.5. SCEs und Chromosomenaberrationen

Die nun schon mehrmals erwähnte Korrelation zwischen SCEs und Chromosomenaberrationen kann hier nur anhand anderer Untersuchungen aufgezeigt werden, wie zum Beispiel der parallel laufenden von GEBHART (mündliche Mitteilung 1979). Die ermittelten Bruchraten lagen in gleichen Therapieabschnitten niedriger als die SCE-Raten, erhöhten sich aber ebenso wie diese mit fortschreitender Behandlungsdauer, ohne jedoch die SCE-Gipfel zu erreichen.

Bemerkenswert ist nun, daß nicht alle Schwesterchromatidaustausche induzierenden Agentien notwendigerweise auch Chromosomenaberrationen auslösen. Andererseits können Mutagene Aberrationen bewirken, ohne daß eine Induktion an Schwesterchromatid-austauschen eintritt (GALLOWAY, EVANS (1975); KIHLMAN (1975); LATT et al. (1975); WOLFF et al. (1975); NATARAYAN et al. (1976); KIHLMAN et al. (1977) a, b; PALITTI (1977); BURGDORF (1977)).

GALLOWAY und WOLFF (1979) verdeutlichten dies in einer Untersuchung, in der das Auftreten von Brüchen und SCEs verglichen wurde. Sie stellten einen unabhängigen Mechanismus trotz einiger Gemeinsamkeiten fest. Bei 7 chemischen Mutagenen waren 25 % von 914 Brüchen mit SCEs korreliert, und zwar bei Ratten- und CHO-Zellen. Diese Häufigkeit interpretierten sie dahingehend, daß SCEs und Brüche unabhängig eintreten. Um diese Frage exakt beantworten zu können, bedürfte es weiterer Erkenntnisse über den Entstehungs-Mechanismus der Schwesterchromatidaustausche.

4.6. Die interindividuelle und interzelluläre Variabilität

Die hier aufgezeigte interindividuelle und interzelluläre Variabilität (siehe oben) wird besonders in den höheren Therapieabschnitten deutlich, vor allem die interzelluläre Variabilität. Bei einer SCE-Rate von 37,9 wurde schon eine höhere Standardabweichung und ein Streubereich von 7 - 64 beobachtet. Die mutagene Einwirkung wird also von den Zellen unterschiedlich beantwortet. Ein negativer Einfluß der Zytostatika auf die Zellteilung ist per definitionem gegeben, ebenso die zum Teil letale Wirkung auf die Zelle. Letal geschädigte Zellen scheiden aus den teilungsfähigen Populationen aus und sind daher auch im Mikroskop nicht mehr zu erkennen. Ebenso wie die Einzelzellen in ihrer zytogenetischen Reaktion auf die Mutagene stark variierten, so fanden sich auch erhebliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Patienten. Eine Erklärung hierfür ist sicherlich außerordentlich komplex, dürfte aber mit hoher Wahrscheinlichkeit auch pharmakogenetische Faktoren einschließen. Obgleich die in der vorliegenden Studie applizierten Chemotherapeutika MeCCNU, 5-FU und VCR die SCE-Raten eindeutig erhöhten und die Schwesterchromatidaustausche einen sensibleren Indikator

darzustellen scheinen als die in vergleichbaren Mutagenitätstests analysierten Aberrationstypen, kann die SCE-Analyse demnach nur eine Ergänzung, aber kein Ersatz der herkömmlichen Methoden sein. Wie die Literatur zeigt, induzieren nicht alle chemischen Mutagene SCEs. Dies impliziert natürlich auch, daß über den genauen Mechanismus der Entstehung von Schwesterchromatidaustauschen bisher wenig bekannt ist. Eine weitere Zunahme der diesbezüglichen Erkenntnisse kann zweifellos die Bedeutung der schon jetzt weit verbreiteten und beliebten SCE-Analyse weiter steigern.

5. Zusammenfassung

Aus dem peripheren Blut von 28 (15 weiblichen und 13 männlichen) Colon- und Rektum-Ca operierten Patienten wurden vor und während der zytostatischen Behandlung mit MeCCNU, 5-FU und VCR Lymphozytenkulturen angesetzt. Die Intervalltherapie wurde nach einer Standardmethode durchgeführt, mit jeweils 4wöchiger Behandlungspause und einer MeCCNU-Gabe am 1. Tag und im weiteren Verlauf bei jedem 2. Therapieschub ebenfalls nur am 1. Tag. Die Behandlung wurde nur bei Rezidivfreiheit und ohne vorherige oder gleichzeitige Strahlenexposition eingeleitet bzw. fortgeführt.

Die Lymphozytenkulturen wurden vor und nach jedem Therapieschub angelegt. Zur Darstellung der Schwesterchromatidaustausche wurde die BUDR/Giemsa-Färbetechnik verwendet. Geprüft werden sollte die Anwendbarkeit von SCE-Analysen und ihre Bedeutung hinsichtlich chemotherapeutisch versorgter Patienten, verglichen mit den herkömmlichen Mutagenitätsprüfungen.

Folgende Untersuchungsergebnisse sind zu verzeichnen:

- 1) Die im Verlauf der Intervalltherapie induzierten Schwester-chromatidaustausche lagen in jedem Fall über den ermittelten Kontrollraten.
- 2) Mit fortschreitender Behandlungsdauer erfolgte eine Zunahme der SCE-Raten, die auch 4 Wochen nach dem letzten Therapie-schub in keinem Fall auf die Kontrollraten vor Beginn der zytostatischen Behandlung zurückgingen.
- 3) Eine starke SCEs induzierende Wirkung zeigte das Zytostati-kum MeCCNU. Trotz eines sichtbaren Summationseffekts, vor allem in den höheren Therapieabschnitten, ist eine lineare Dosis-Wirkung-Beziehung nicht gegeben.
- 4) Eine gegebene interindividuelle und interzelluläre Variabili-tät zeigt sich besonders deutlich in den höheren Therapieab-schnitten.

Abb. 1 : Therapieplan

Woche	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
Tag	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
MeC											MeC				
Zytostase	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
V	V					V					V				

Chromosomen-
untersuchung

v1 n1 v2 n2 v3 n3

MeC = MeCCNU

F = 5-Fluorouracil

V = Vincristin



Abb. 2 und 3 : Metaphase in der 2. Teilung mit Schwesterchromatidaustauschen, wie sie sich im Mikroskop darstellen.





Abb. 4 : Beispiel einer Metaphase mit erhöhter Schwester-
chromatidaustauschrate

SCE / M

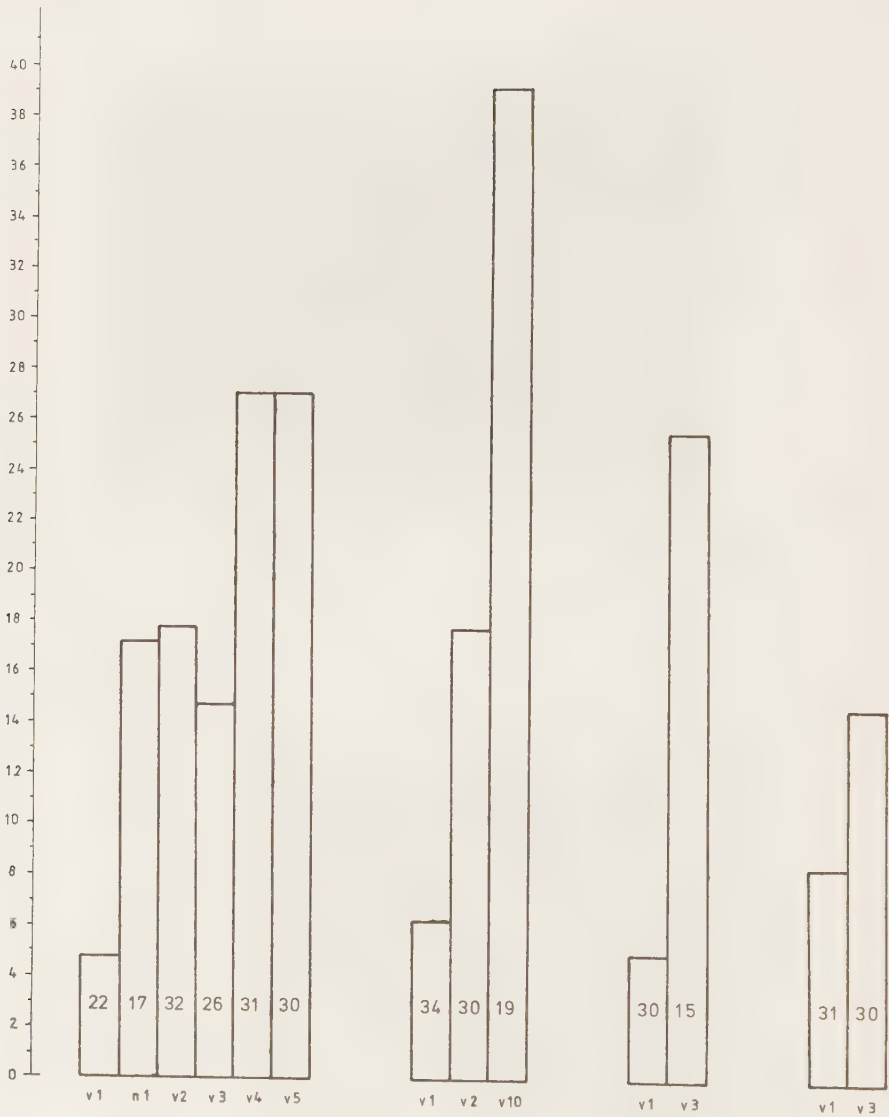


Abb. 5 · Die SCE - Raten von 4 Patienten vor Beginn der Therapie u. nach verschiedenen Therapieabschnitten.

Die Zahlen in den Säulen beziehen sich auf die Anzahl ausgewerteter Zellen.

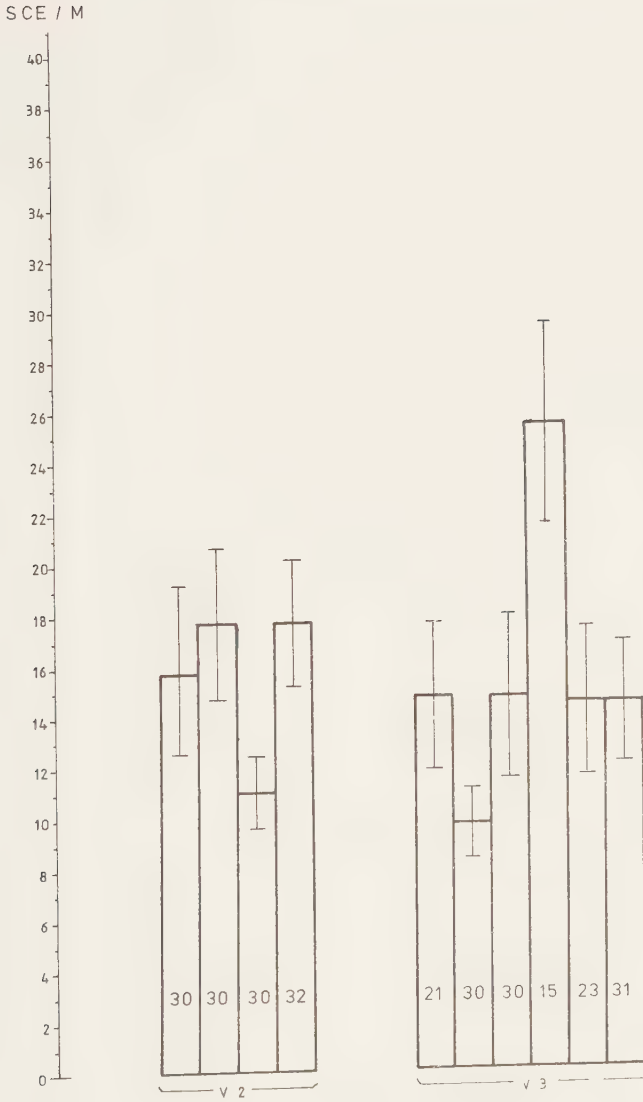


Abb. 6 : Die interindividuelle Variabilität im Therapiestadium "vor 2 " gezeigt an 4 Patienten und im Therapiestadium " vor 3 " an 6 Patienten. Die Zahlen in den Säulen geben die ausgewerteten Zellen wieder.

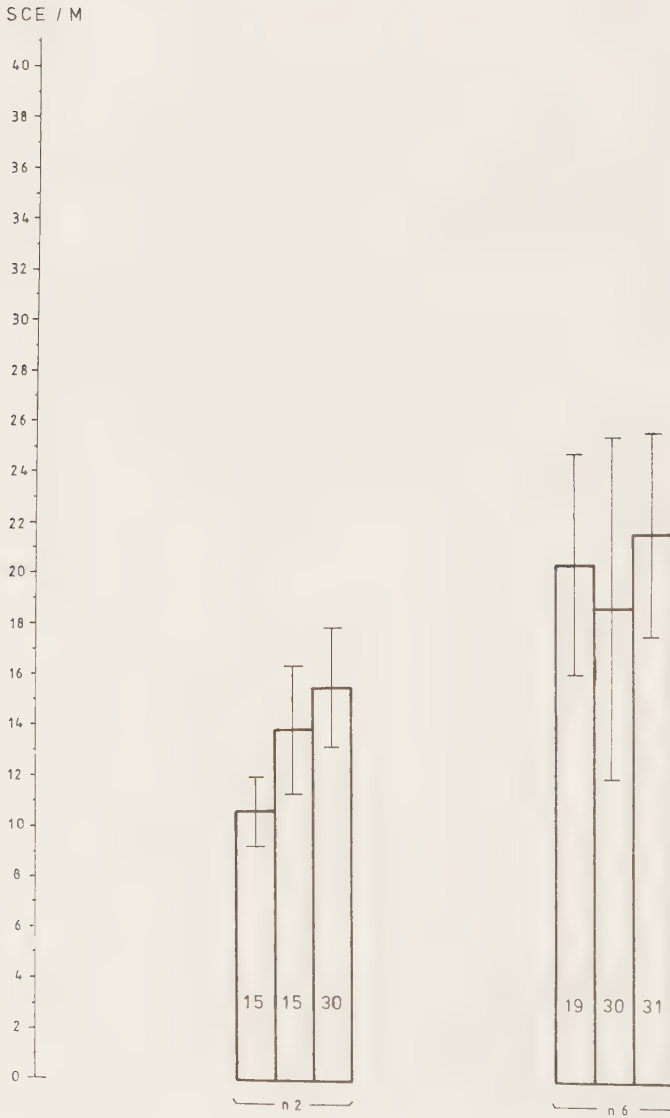


Abb. 7 Die interindividuelle Variabilität im Therapiestadium "nach 2" und "nach 6" an Hand von jeweils 3 Patienten mit Standardabweichung und der Zahl der ausgewerteten Zellen in den einzelnen Säulen.

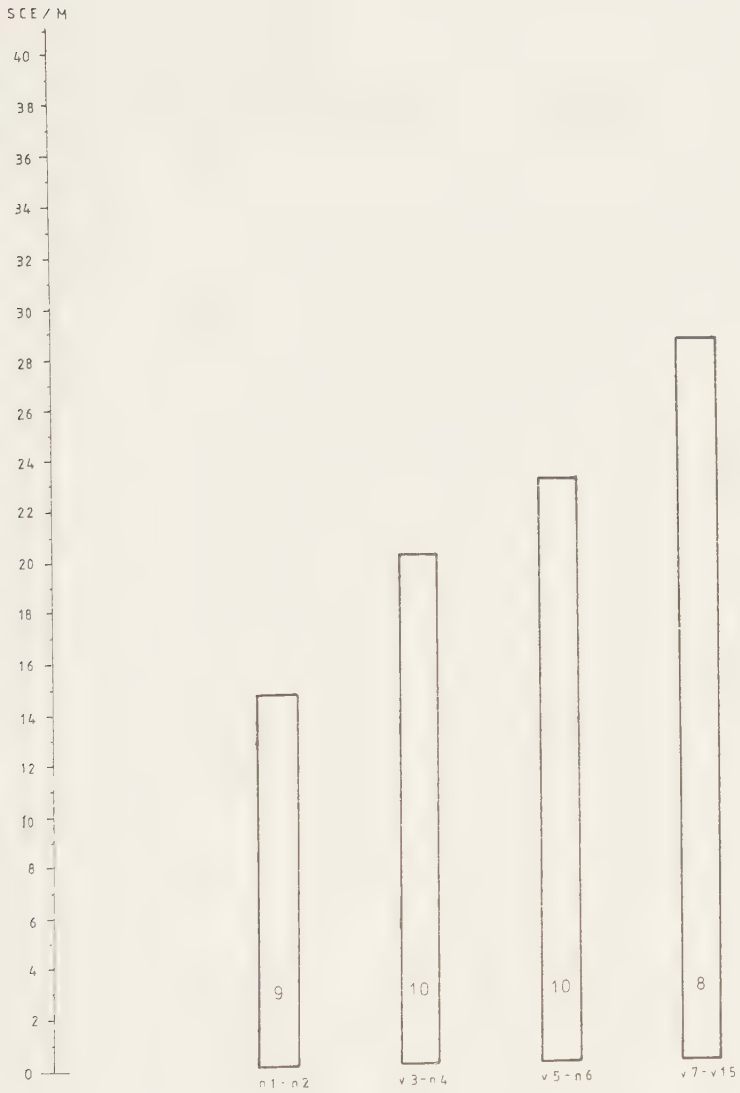


Abb 8: Anstieg der SCE / M innerhalb von 4 folgenden Therapieabschnitten.

Die Zahlen innerhalb der Säulen kennzeichnen die Anzahl der Probanden.

Tabelle 1 : Das zytostatisch behandelte Patientenkollektiv

Patient	lfd. Nr.	Alter	Sex	Blutabnahmen
Bi	374	61	f	10
Do	336	50	m	n 8
Fi	389	50	f	n 1
Fu	82, 101	62	m	n 5, v 6
Ge	299, 317, 347, 375, 407, 431	56	f	v 1, n 1, v 2, v 3, v 4, v 5
Gl	351, 378	55	f	v 6, v 7
Gr	338, 392	70	m	n 6, v 8
He	121, 144, 345	54	f	v 1, v 2 v 10
Hi	92, 112, 133	26	m	n 2, v 3, n 4
Hu	64, 70	71	m	v 2, n 2
Ja	404	24	f	v 1
Ke	304, 371	61	m	v 1, v 3
Ki	66, 114 134	41	f	n 2, v 4, n 5
Kl	360	42	f	v 15
Ko	310	54	f	v 1
Li	69	67	m	v 3
Ma	126	67	f	v 4
MÜ	376	46	m	n 6
Ni	356, 417	60	f	v 1, v 3
Pr	123, 141	43	f	v 1, v 2
Re	361	58	m	v 6

Tabelle 1 Fortsetzung :

Patient	lfd. Nr.	Alter	Sex	Blutabnahmen
Schl	339	58	f	v 1
Scho	355	44	f	v 6
Schuh	341	58	m	v 14
Schul	67, 113	65	m	n 6, v 8
Te	358	27	m	v 3
Vo	122	49	f	v 1
Za	84	34	m	n 9
28		51,8	15f, 13m	47

Tabelle 2 : SCE-Raten von 9 Patienten vor Beginn der Intervall-
therapie

Pat. Nr.	Alter	Sex	N	SCE	$\frac{\text{SCE}}{\text{M}}$	s	Streubereich
299	56	f	22	105	4,8	2	1-9
121	54	f	34	212	6,2	1,2	4-9
404	24	f	30	142	4,7	2,2	1-9
304	61	m	30	149	5	2,5	1-12
310	54	f	30	168	5,6	3	1-12
356	60	f	31	259	8,4	3,4	3-18
123	43	f	30	168	5,6	2	2-10
339	58	f	32	229	7,2	2,3	3-11
122	49	f	15	60	4	1,1	2-6
9	51	8f, 1m	254	1492	5,15	1,97	0-18

N : Zahl der ausgewerteten Zellen

SCE : Summe der SCEs

$\frac{\text{SCE}}{\text{M}}$: SCE/Metaphase (= SCE-Rate)

s : Standardabweichung der Einzelwerte

Tabelle 3 : SCE-Raten aus dem Therapiestadium "vor 4"

Proband lfd. Nr.	N	SCE	$\frac{\text{SCE}}{\text{M}}$	Streubereich
407	31	838	27	0 - 45
114	32	652	20,4	4 - 28
126	30	450	15	8 - 24
3 Prob.	93	1940	20,8	0 - 45

Tabelle 4 : SCE-Raten aus dem Therapiestadium "vor 6"

Proband lfd. Nr.	N	SCE	$\frac{\text{SCE}}{\text{M}}$	Streubereich	s
101	33	759	23	11 - 34	6,2
351	30	1141	38	2 - 62	10,4
361	17	323	19	1 - 38	11,7
355	30	960	32	5 - 55	10,7
4 Prob.	110	3183	28	1 - 62	9,7

Tabelle 5 : SCE-Raten von Patienten vor den jeweiligen Therapieschüben

	Proband lfd. Nr.	Therapie- stadium	N	SCE	$\frac{\text{SCE}}{\text{M}}$	s	Streubereich
Hu	64	v 2	30	471	15,7	6,6	3 - 29
Ki	114	v 4	32	652	20,4	5,7	4 - 28
He	144	v 2	30	532	17,7	6	7 - 32
	345	v 10	19	741	39	18,5	1 - 68
Pr	141	v 2	30	330	11	2,8	5 - 17
Ge	347	v 2	32	565	17,7	5	4 - 28
	375	v 3	21	383	14,7	5,9	2 - 24
	407	v 4	31	838	27	8,8	0 - 45
	431	v 5	30	811	27	12,4	3 - 48
Hi	112	v 3	30	291	9,7	2,8	3 - 14
Ni	417	v 3	30	443	14,7	6,5	3 - 30
Ke	371	v 3	15	382	25,5	8	8 - 36
Li	69	v 3	23	333	14,5	5,9	2 - 27
Te	358	v 3	31	450	14,9	4,8	7 - 28
Ma	126	v 4	30	450	15	4,8	8 - 24
Fu	101	v 6	33	759	23	6,2	11 - 34

Tabelle 5 Fortsetzung :

	Proband lfd. Nr.	Therapie- stadium	N	SCE	$\frac{SCE}{M}$	s	Streubereich
Gl	351	v 6	30	1141	38	10,4	2 - 62
	378	v 7	30	708	23,6	11,7	4 - 42
Scho	355	v 6	30	960	32	10,8	5 - 55
Re	361	v 6	17	323	19	11,7	1 - 38
Schu	113	v 8	31	469	15,1	9,9	3 - 37
Gr	392	v 8	30	871	29	13,8	2 - 50
Kl	360	v 15	31	1176	37,9	15,7	7 - 64
18 Prob.			646	14079	21,8		0 - 64

Tabelle 6 : SCE-Raten von Patienten nach den jeweiligen
Therapieschüben

Proband	lfd. Nr.	Therapie- stadium	N	SCE	$\frac{SCE}{M}$	s	Streubereich
Hi	92	n 2	15	159	10,6	2,7	2 - 15
	133	n 4	30	725	24,2	6,7	12 - 42
Ki	66	n 2	30	466	15,5	4,8	8 - 27
	134	n 5	32	512	16	5,5	4 - 26
Fi	389	n 1	30	402	13,4	3,9	5 - 20
Ge	317	n 1	17	290	17,1	6	9 - 36
Hu	70	n 2	15	207	13,8	5,1	4 - 20
Fu	82	n 5	20	372	18,6	5,4	8 - 29
Schu	67	n 6	31	670	21,6	8	6 - 41
Gr	338	n 6	19	388	20,4	8,8	4 - 39
Mü	376	n 6	30	561	18,7	13,4	1 - 41
Dö	336	n 8	20	451	22,6	9,7	4 - 38
Za	84	n 9	25	507	20,3	5,9	9 - 32
11 Prob.		13 Stadien	314	8710	17,9		1 - 42

Tabelle 7 : SCE-Raten unmittelbar nach und 4 Wochen nach den Therapieabschnitten mit dem Zytostatikum MeCCNU

Anzahl der Probanden	Therapiestadium	N	SCE	$\frac{\text{SCE}}{\text{M}}$	Streubereich
2	n 1	47	692	15,3	8 - 36
2	n 5	52	884	17,3	4 - 29
1	n 9	25	507	20,3	9 - 32
4	v 2	122	1898	15,5	3 - 32
3	v 4	93	1940	20,8	0 - 45
4	v 6	110	3183	28	1 - 62
2	v 8	61	1340	22	2 - 50

Tabelle 8 : SCE-Raten unmittelbar nach und 4 Wochen nach den Therapieabschnitten ohne MeCCNU

Anzahl der Probanden	Therapiestadium	N	SCE	$\frac{\text{SCE}}{\text{M}}$	Streubereich
3	n 2	60	832	13,3	2 - 27
1	n 4	30	725	24,2	12 - 42
3	n 6	80	1619	20,2	1 - 41
1	n 8	20	451	22,6	4 - 38
6	v 3	155	2282	15,6	2 - 36
1	v 5	30	811	27	3 - 48
1	v 7	30	708	23,6	4 - 42

Tabelle 9 : Beziehung zwischen SCE-Raten und bestimmten Therapieabschnitten

Anzahl der Probanden	Therapie-stadium	N	SCE	$\frac{\text{SCE}}{\text{M}}$	Streubereich
2	n 1	47	692	15,3	8 - 36
4	v 2	122	1898	15,5	3 - 32
3	n 2	60	832	13,3	2 - 27
9		229	3422	14,7	2 - 36
6	v 3	155	2282	15,6	2 - 36
3	v 4	93	1940	20,8	0 - 45
1	n 4	30	725	24,2	12 - 42
10		278	4947	20,2	0 - 45
1	v 5	30	811	27	3 - 48
2	n 5	52	884	17,3	4 - 29
4	v 6	110	3183	28	1 - 62
3	n 6	80	1619	20,2	1 - 42
10		272	6497	23,1	1 - 48
1	v 7	30	708	23,6	4 - 42
2	v 8	61	1340	22	2 - 50
1	n 8	20	451	22,6	4 - 38
1	n 9	25	507	20,3	9 - 32
1	v 10	19	741	39	1 - 68
1	v 14	30	1065	35,5	5 - 70
1	v 15	31	1176	37,9	7 - 64
8		216	5988	28,7	1 - 70

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) ABE, S., SASAKI, M.: Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells exposed to various chemicals.
L. Natl. Cancer Inst. 58 (1977) 1635-1640
- 2) ALLEN, J.W., LATT, S.A.: Analysis of sister chromatid exchange formation in vivo in mouse spermatogonia as a new test system for environmental mutagens.
Nature 260 (1976) 449-451
- 3) BAUKNECHT, T., VOGEL, W., BAYER, U., WILD, D.: Comparative in vivo mutagenicity testing by SCE and micronucleus induction in mouse bone marrow.
Hum. Genet. 35 (1977) 299-307
- 4) BEEK, B., OBE, G.: The human leukocyte test system, II. Different sensitivities of sub-populations to a chemical mutagen.
Mut. Res. 24 (1974) 395-398
- 5) BEEK, B., OBE, G.: The human leukocyte test system.
IV. The use of sister chromatid exchanges as a possible indicator for mutagenic activities.
Humangenetik 29 (1975) 127-134
- 6) BEEK, B., OBE, G.: Differential chromosome radiosensitivity within the first G₁-phase of the cell cycle of early-dividing human leukocytes in vitro after stimulation with PHA.
Hum. Genet. 35 (1977) 209-218
- 7) BEEK, B., OBE, G.: Sister chromatid exchanges in human leukocyte chromosomes: Spontaneous and induced frequencies in early- and late-proliferating cells in vitro.
Hum. Genet. 49 (1979) 51-61
- 8) BLOOM, S.E., HSU, T.C.: Differential fluorescence of sister chromatids in chicken embryos exposed to 5-bromodeoxyuridine.
Chromosoma (Berl.) 51 (1975) 261-267
- 9) BURGDORF, W., KURVINK, K., CERVENKA, J.: Elevated sister chromatid exchange rate in lymphocytes of subjects treated with arsenic.
Hum. Genet. 36 (1977) 69-72

- 10) CARRANO, A.V., THOMPSON, L.H., STETKA, D.G., MINKLER, J.L., MAZRIMAS, J.A., FONG, S.: DNA crosslinking, sister-chromatid exchange and specific-locus mutations.
Mut. Res. 63 (1979) 175-188
- 11) CHAGANTI, R.S.K., SCHONBERG, S., GERMAN, J.: A manifold increase in sister chromatid exchanges in Bloom's syndrome lymphocytes.
Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 71 (1974) 4508-4512
- 12) CROSSEN, P.E., DRETS, M.E., ARRIGHI, F.E., JOHNSTON, D.A.: Analysis of the frequency and distribution of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes.
Hum. Genet. 35 (1977) 345-352
- 13) DAOUD, C., SHAW, M.W., CRAIG-HOLMES, A.: Sister chromatid exchange frequency among normal individuals and breast cancer patients.
Mamm. Chrom. Newsl. 17 (1976) 26
- 14) DUTRILLAUX, B., FOSSE, A.M., PRIEUR, M., LEJEUNE, J.: Analyse des échanges de chromatides dans les cellules somatiques humaines.
Chromosoma (Berl.) 48 (1974) 327-340
- 15) GALLOWAY, S.M., EVANS, H.J.: sister chromatid exchange in human chromosomes from normal individuals and patients with ataxia teleangiectasia.
Cytogenet. Cell Genet. 15 (1975) 17-29
- 16) GALLOWAY, S.M.: Ataxia teleangiectasia: The effects of chemical mutagens and x-rays on sister chromatid exchanges in blood lymphocytes.
Mut. Res. 45 (1977) 343-349
- 17) GALLOWAY, S.M., WOLFF, S.: The relation between chemically induced sister-chromatid exchanges and chromatid breakage
Mut. Res. 61 (1979) 297-307
- 18) GEBHART, E. mündliche Mitteilung 1979
- 19) HATCHER, N.H., RISEMBERG, H.M., POWERS, M.M., HOOK, E.B.: Sister-chromatid exchange and phototherapy.
Mut. Res. 60 (1979) 401-403

- 20) HAYASHI, K., SCHMID, W.: The rate of sister chromatid exchanges parallel to spontaneous chromosome breakage in Fanconi's anemia and to Trenimon-induced aberrations in human lymphocytes and fibroblasts.
Humangenetik 29 (1975) 201-206
- 21) HO, D.H.W.: Distribution of kinase and deaminase of 1 β -D-arabino-furanosylcytosine in tissue of man and mouse.
Cancer Res. 33 (1973) 2816-2821
- 22) KAKATI, S., ABE, S., SANDBERG, A.: Sister chromatid exchange in Philadelphia Chromosome (Ph¹)-positive Leukemia.
Cancer Res. 38 (1978) 2918-2921
- 23) KATO, H.: Spontaneous sister chromatid exchanges detected by a BUdR-labelling method.
Nature 251 (1974 a) 70-72
- 24) KATO, H.: Possible role of DNA synthesis in formation of sister chromatid exchanges.
Nature (London) 252 (1974 b) 739-741
- 25) KATO, H.: Induction of sister chromatid exchanges by chemical mutagens and its possible relevance to DNA repair.
Exptl. Cell Res. 85 (1974 c) 239-247
- 26) KATO, H., SHIMADA, H.: Sister chromatid exchanges induced by mitomycin C: a new method of detecting DNA damage at chromosomal level.
Mut. Res. 28 (1975) 459-464
- 27) KATO, H.: Mechanisms for sister chromatid exchanges and their relation to the production of chromosomal aberrations
Chromosoma 59 (1977) 179-191
- 28) KIHLMAN, B.A.: Sister chromatid exchanges in *Vicia faba* II. Effects of thiotepa, caffeine and 8-ethoxycaffeine on frequency of SCE's.
Chromos. 51 (1975) 11-18
- 29) KIHLMAN, B.A., STURELID, S., PALITTI, F., BECCHETTI, A.: Effects of caffeine, an inhibitor of post-replication repair in mammalian cells, on the frequencies of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges induced by mutagenic agents.
Mut. Res. 46 (1977 a) 130-131

- 30) KIHLMAN, B.A.: Sister chromatid exchanges and their relation to the production of chromosomal aberration.
Chromosoma 59 (1977 b) 179-191
- 31) KORENBERG, J.R., FREEDLENDER, E.F.: Giemsa technique for the detection of sister chromatid exchanges.
Chromosoma (Berl.) 48 (1974) 355-360
- 32) LAMBERT, B., HANNSEN, K., LINDSTEN, J., STEN, M., WERELIUS, B.: Bromodeoxyuridine-induced sister chromatid exchanges in human lymphocytes.
Hereditas 83 (1976) 163-174
- 33) LAMBERT, B., RINGBORG, U., HARPER, E., LINDBLAD, A.: Sister chromatid exchanges in lymphocytes cultures of patients receiving chemotherapy for malignant disorders.
Cancer Treat.Rep. 62 (1978) 1413-1419
- 34) LAMBERT, B., RINGBORG, U., LINDBLAD, A.: Prolonged increase of sister chromatid exchanges in lymphocytes of melanoma patients after CCNU treatment.
Mut. Res. 59 (1979) 295-300
- 35) LATT, S.A.: Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes.
Proc. Natl. Acad. Sci. (Wash.) 70 (1973) 3395-3399
- 36) LATT, S.A.: Sister chromatid exchanges, indices of human chromosome damage and repair: detection by fluorescence and induction by mitomycin C.
Proc. Natl. Sci. USA 71 (1974) 3162-3166
- 37) LATT, S.A., STETTEN, G., JUERGENS, L.A., BUCHANAN, G.R., GERALD, P.S.: Induction by alkylating agents of sister chromatid exchanges and breaks in Fanconi's anemia.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72 (1975) 4066-4070
- 38) MORGAN, W.F., CROSSEN, P.E.: The incidence of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes.
Mut. Res. 42 (1977 a) 305-312
- 39) MORGAN, W.F., CROSSEN, P.E.: The frequency and distribution of sister chromatid exchanges in human chromosomes.
Humangenetik 38 (1977 b) 271-278

- 40) MUSILOVA, J., MICHALOVA, K., URBAN, J.: Sister chromatid exchanges and chromosomal breakage in patients treated with cytostatics.
Mut. Res. 67 (1979) 289-294
- 41) NATARAJAN, A.T., TATES, P.P.W., VAN BUUL, MEIERS, M., DE VOGEL, N.: Cytogenetic effects of mutagens carcinogens after activation in an in vitro microsomal system, I. Induction of chromosome aberrations and sister chromatid exchanges by diethyl nitrosamine (DEN) and dimethyl nitrosamine (DMN) in CHO cells in the presence of rat liver microsomes.
Mut. Res. 37 (1976) 83-90
- 42) NEVSTAD, N.P.: Sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations induced in human lymphocytes by the cytostatic drug adriamycin in vivo and in vitro.
Mut. Res. 57 (1978) 253-258
- 43) PALITTI, F., BECCHETTI, A.: Effect of caffeine on sister chromatid exchanges and chromosome aberrations induced by mutagens in Chinese hamster cells.
Mut. Res. 45 (1977) 157-159
- 44) PERRY, P., WOLFF, S.: New giemsa method for the differential staining of sister chromatids.
Nature 251 (1974) 156-158
- 45) PERRY, P., EVANS, H.J.: Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange.
Nature 258 (1975) 121-125
- 46) POPESCU, N.C., TURNBULL, D., DI PAOLO, J.A.: Sister chromatid exchange and chromosome aberration analysis with the use of several carcinogens and noncarcinogens.
J. Natl. Cancer Inst. 59 (1977) 289-292
- 47) RAPOSA, T.: Sister chromatid exchange studies for monitoring DNA damage and repair capacity after cytostatics in vitro and in lymphocytes of leukaemic patients under cytostatic therapy.
Mut. Res. 57 (1978) 241-251
- 48) SCHINZEL, A., SCHMID, W.: Lymphocyte chromosome studies in human exposed to chemical mutagens. The validity of the method in 67 patients under cytostatic therapy.
Mut. Res. 40 (1976) 139-166

- 49) SOKOVA, O.J.: Chromosome aberrations and SCE's in Chinese hamster cells treated with FTORAFU and 5-Fluorouracil. Oncological Res. Center, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow
Genetika 14/10 (1978) - 1823
- 50) SOLOMON, E., BOBROW, M.: Sister chromatid exchange - a sensitive assay of agents damaging human chromosomes.
Mut. Res. 30 (1975) 273-278
- 51) SONO, A., SAKAGUCHI, K.: Induction of sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells by antitumor agents and its relation to chromosome aberrations.
Cell Structure and Function 3 (1978) 341-347
- 52) STETKA, D.G., WOLFF, S.: Sister chromatid exchanges as an assay for genetic damage induced by mutagen-carcinogens I. In vivo test for compounds requiring metabolic activation.
Mut. Res. 41 (1976 a) 333-342
- 53) STETKA, D.G., WOLFF, S.: Sister chromatid exchanges as an assay for genetic damage induced by mutagen-carcinogens II.
Mut. Res. 41 (1976 b) 343-350
- 54) STOLL, C., BORGAONKAR, D.S., LEVY, J.-M.: Effect of Vincristine on sister chromatid exchanges of normal human lymphocytes.
Cancer Res. 36 (1976) 2710-2713
- 55) TAKEHISA, S., WOLFF, S.: Induction of sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells by carcinogenic mutagens requiring metabolic activation.
Mut. Res. 45 (1977) 263-270
- 56) TAYLOR, J.H., WOODS, P.S., HUGHES, W.L.: The organisation and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium labeled thymidine.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 43 (1957) 122-127
- 57) VOGEL, W., BAUKNECHT, T.: Differential chromatid staining by in vivo treatment as a mutagenicity test system.
Nature 260 (1976) 448-449

- 58) WOLFF, S., PERRY, P.: Differential giemsa staining of sister chromatids and the study of sister chromatid exchanges without autoradiography.
Chromosoma (Berl.) 48 (1974) 341-353
- 59) WOLFF, S., BODYCOTE, J., THOMAS, G.H., CLEAVER, J.E.: Sister chromatid exchange in xeroderma pigmentosum cells that are defective in DNA excision repair or post-replication repair.
Genetics 81 (1975) 349-355
- 60) WOLFF, S., RODIN, B., CLEAVER, J.E.: Sister chromatid exchanges induced by mutagenic carcinogens in normal and xeroderma pigmentosum cells.
Nat. (London) 265 (1977) 347-349

Herrn Prof. Dr. G. Koch danke ich für den Arbeitsplatz im Institut für Humangenetik und Anthropologie.

Mein herzlicher Dank gilt vor allem Herrn Prof. Dr. rer. nat.

E. Gebhart für die freundliche Überlassung des Themas und die wertvolle Unterstützung bei Durchführung dieser Arbeit.

Aufrichtig bedanken möchte ich mich auch bei allen Mitarbeitern im Institut für Humangenetik und Anthropologie, die mir immer hilfreich zur Seite standen.

Lebenslauf

Am 22. September 1948 wurde ich als erste Tochter des Zahnarztes Jac Windolph und seiner Ehefrau Irene Windolph, geb. Geidies, in Forchheim geboren. Meine Einschulung erfolgte im September 1954 und im Juni 1970 bestand ich das Abitur. Die Zulassung zum Studium der Zahnmedizin erhielt ich für das Sommersemester 1974 an der Universität Erlangen-Nürnberg. Die Approbation erlangte ich im Juli 1979 an der gleichen Universität.

